

Folha de protocolo QIASymphony® RGQ

Definições de corrida dos artus® QS-RGQ Kits (software Rotor-Gene® Q 2.1 ou superior)

	artus BK Virus QS-RGQ Kit	Versão 1, 	4514363
	artus CMV QS-RGQ Kit	Versão 1, 	4503363
	artus EBV QS-RGQ Kit	Versão 1, 	4501363
	artus HBV QS-RGQ Kit	Versão 1, 	4506363, 4506366
	artus HCV QS-RGQ Kit	Versão 1, 	4518363, 4518366
	artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit	Versão 1, 	4513363, 4513366
	artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit	Versão 1, 	4500363
	artus VZV QS-RGQ Kit	Versão 1, 	4502363

Gestão da versão

Este documento é a folha de protocolo QIASymphony RGQ, versão 1, R3.



Verificar a disponibilidade de novas revisões de rotulagem eletrónica em www.qiagen.com antes da realização do teste.

Pontos importantes antes de iniciar o procedimento

- Familiarizar-se com o Rotor-Gene Q antes de dar início ao protocolo. Consultar o manual de utilizador do instrumento.
- Ver também o respetivo manual do artus QS-RGQ Kit e folha de aplicação em www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.



Sample & Assay Technologies

Folha de protocolo QIAasymphony® RGQ

- Assegurar-se de que todos os padrões de quantificação, bem como, pelo menos, um controlo negativo (água, grau de PCR) são incluídos por cada corrida PCR. Para criar uma curva padrão, usar todos os padrões de quantificação fornecidos.

1 Janeiro 2014



Sample & Assay Technologies

Procedimento

1. Colocar os tubos PCR no rotor de 72 poços do Rotor-Gene Q. Vedar o rotor com o anel bloqueador.
2. Transferir o ficheiro do ciclador do QIASymphony AS para o computador do Rotor-Gene Q.
3. Abrir a caixa de diálogo "New Run Wizard" (Assistente de nova corrida) (figura 1). Marcar a caixa "Locking Ring Attached" (Anel bloqueador conectado) e clicar em "Next" (Seguinte).

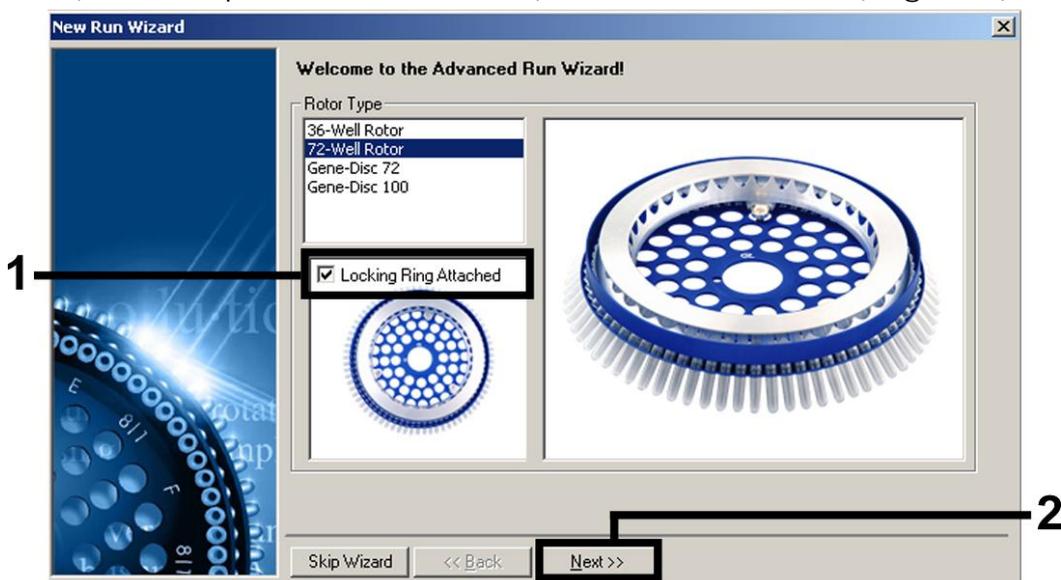


Figura 1. Caixa de diálogo "New Run Wizard" (Assistente de nova corrida).

4. Selecionar 50 para o volume de reação da PCR e clicar em "Next" (Seguinte) (figura 2).

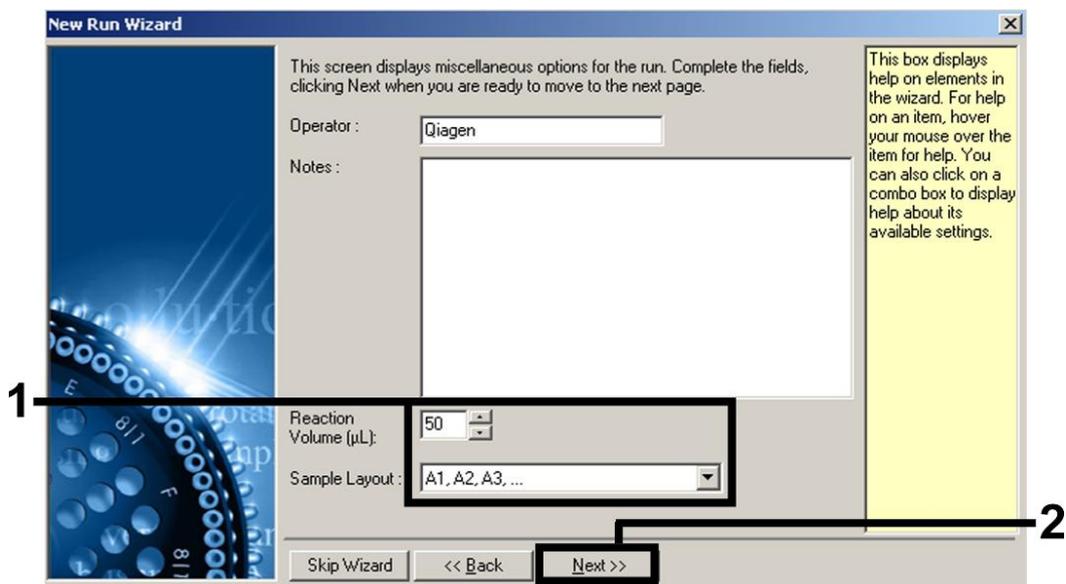


Figura 2. Definição dos parâmetros de ensaio gerais. Nota: Mesmo que o volume de reação física não seja 50 µl, selecionar sempre 50 para o volume de reação no software Rotor-Gene.

5. Clicar no botão "Edit Profile" (Editar perfil) na caixa de diálogo seguinte do "New Run Wizard" (Assistente de nova corrida) (figura 3). Programar o perfil de temperatura indicado para o respetivo *artus* QS-RGQ Kit, tal como mostra a tabela 1, tendo como orientação as capturas de ecrã exemplificadas nas figuras 3–6 (as capturas de ecrã para o *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit são mostradas a título de exemplo).

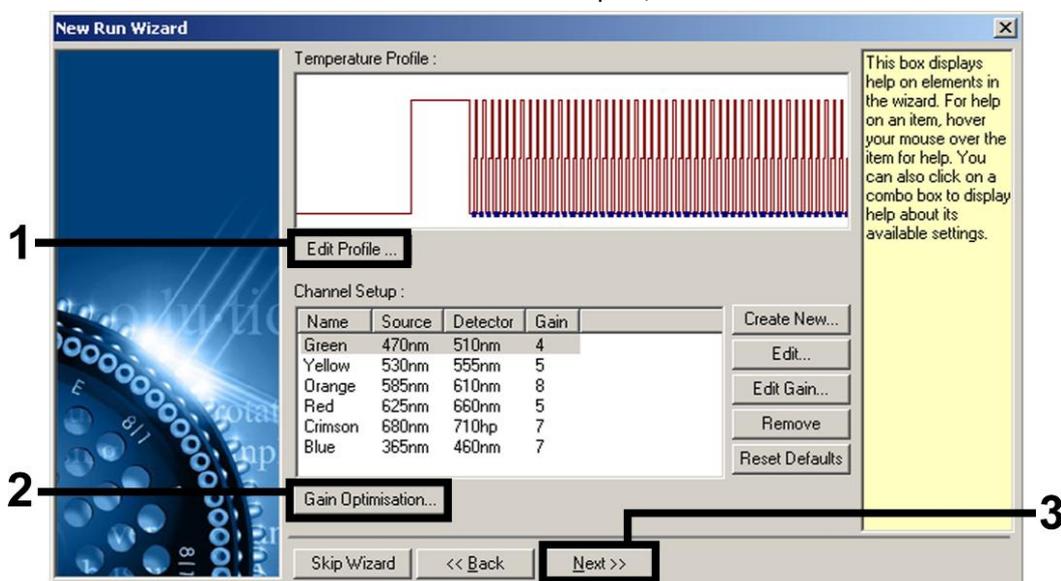


Figura 3. Edição do perfil. As capturas de ecrã para o *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit são mostradas a título de exemplo.

Tabela 1. Perfis de temperatura para os *artus* QS-RGQ Kits

<i>artus</i> QS-RGQ Kit	BK Virus, CMV, EBV, HSV-1/2, VZV	HBV	HCV, HI Virus-1
Hold (Em espera)	Temperature (Temperatura): 95 graus Time (Tempo): 10 min	Temperature (Temperatura): 95 graus Time (Tempo): 10 min	Temperature (Temperatura): 50 graus Time (Tempo): 30 min
Hold 2 (Em espera 2)	Passo não necessário	Passo não necessário	Temperature (Temperatura): 95 graus Time (Tempo): 15 min
Cycling (Ciclagem)	45 vezes 95 graus durante 15 segundos 65 graus durante 30 segundos 72 graus durante 20 segundos Ativar sempre a função de diminuição de um grau a cada ciclo para 10 ciclos no passo de anelamento.	45 vezes 95 graus durante 15 segundos 55 graus durante 30 segundos 72 graus durante 15 segundos	50 vezes 95 graus durante 30 segundos 50 graus durante 60 segundos 72 graus durante 30 segundos

Nota: Ver também a respetiva folha de aplicação
QIASymphony RGQ em
www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.

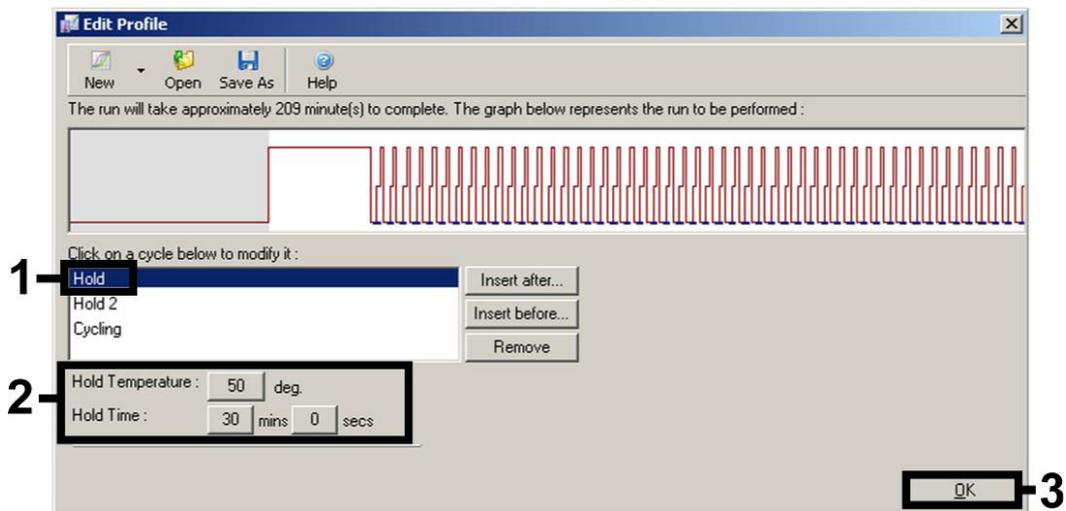


Figura 4. Transcrição reversa do ARN. As capturas de ecrã para o *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit são mostradas a título de exemplo. Nota: Este passo pode ser diferente para os outros *artus* QS-RGQ Kits. Ver tabela 1 para informações específicas para cada *artus* QS-RGQ Kit.

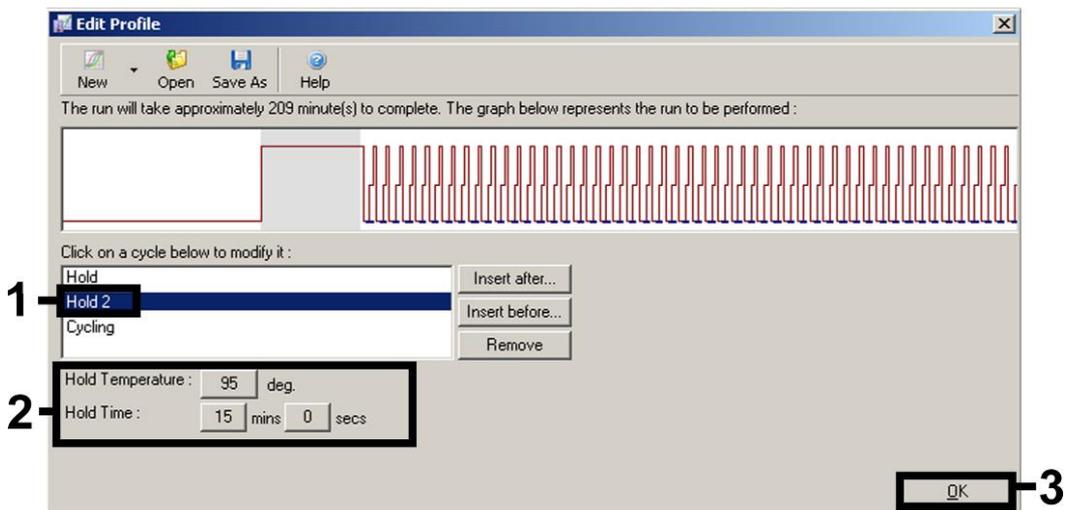


Figura 5. Ativação inicial da enzima de começo quente. As capturas de ecrã para o *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit são mostradas a título de exemplo. Nota: Este passo pode ser diferente para os outros *artus* QS-RGQ Kits. Ver tabela 1 para informações específicas para cada *artus* QS-RGQ Kit.

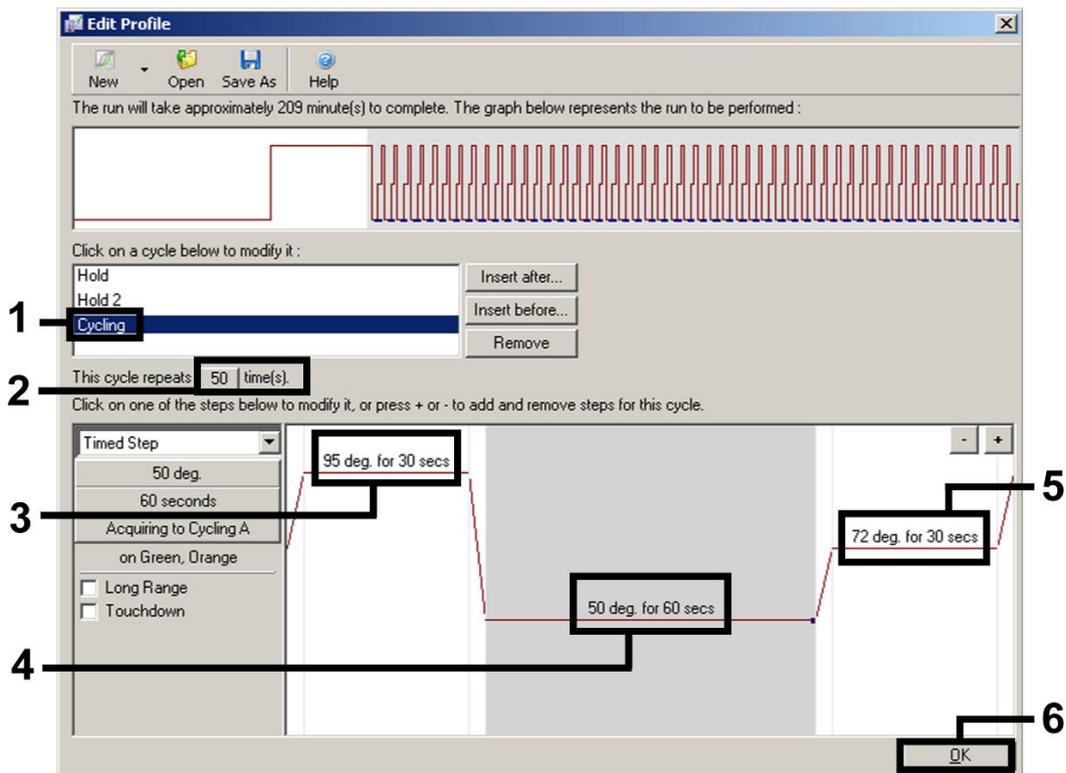


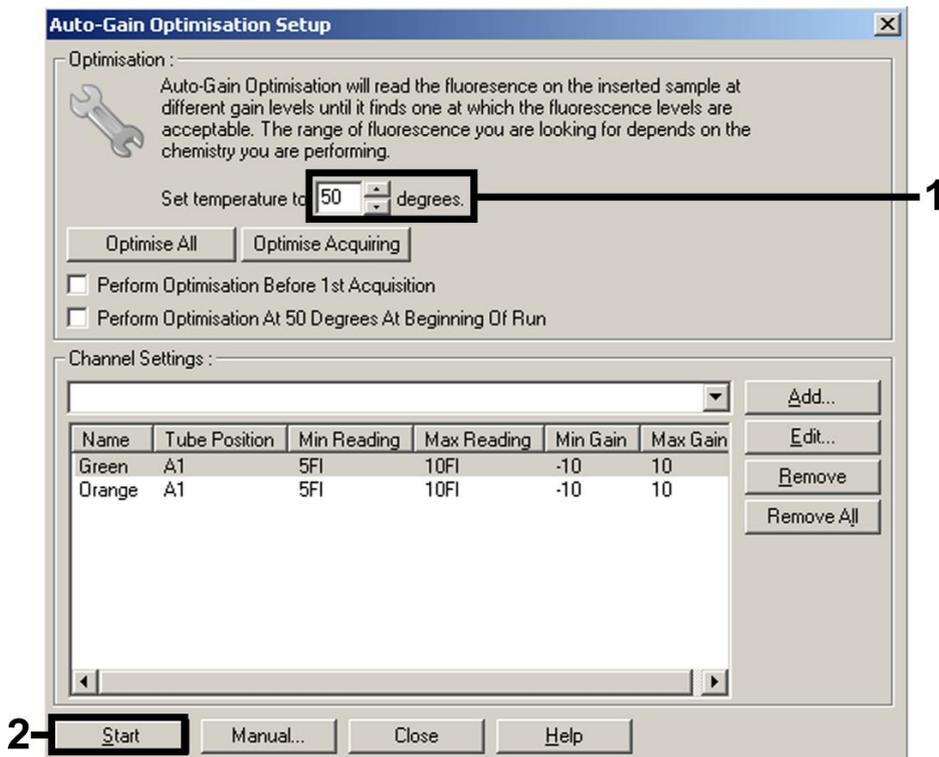
Figura 6. Amplificação do ADN. As capturas de ecrã para o *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit são mostradas a título de exemplo. Nota: Este passo pode ser diferente para os outros *artus* QS-RGQ Kits. Ver tabela 1 para informações específicas para cada *artus* QS-RGQ Kit.

6. O intervalo de deteção dos canais de fluorescência tem de ser determinado de acordo com as intensidades de fluorescência nos tubos de PCR. Clicar em "Gain Optimisation" (Otimização de ganho) na caixa de diálogo "New Run Wizard" (Assistente de nova corrida) (ver figura 3) para abrir a caixa de diálogo "Auto-Gain Optimisation Setup" (Configuração da otimização automática de ganho). Definir a temperatura de calibração para coincidir com a temperatura de anelamento do programa de amplificação e ajustar as sensibilidades do canal de fluorescência (tabela 2 e captura de ecrã a título de exemplo na figura 7).

Tabela 2. Definições “Auto-Gain Optimisation” (Otimização automática de ganho) para os *artus* QS-RGQ Kits

<i>artus</i> QS-RGQ Kit	BK Virus, VZV	CMV, EBV	HBV	HCV, HI Virus-1	HSV-1/2
Temperature (Temperatura)	65 graus	65 graus	55 graus	50 graus	65 graus
Definições dos canais	Green (Verde) Orange (Laranja)	Green (Verde) Yellow (Amarelo)	Green (Verde) Yellow (Amarelo)	Green (Verde) Orange (Laranja)	Green (Verde) Orange (Laranja) Yellow (Amarelo)

Nota: Ver também a respetiva folha de aplicação em www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx



Folha de protocolo QIASymphony RGQ: Definições de corrida dos *artus* QS-RGQ Kits
(software Rotor-Gene Q 2.1 ou superior)

Figura 7. Ajustar a sensibilidade do canal de fluorescência. As capturas de ecrã para o *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit são mostradas a título de exemplo. Nota: Este passo pode ser diferente para os outros *artus* QS-RGQ Kits. Ver tabela 2 para informações específicas para cada *artus* QS-RGQ Kit.

7. Os valores de ganho determinados pela calibração de canais são guardados automaticamente e são enumerados na última janela do menu do procedimento de programação (figura 8). Clique em "Start Run" (Iniciar corrida).

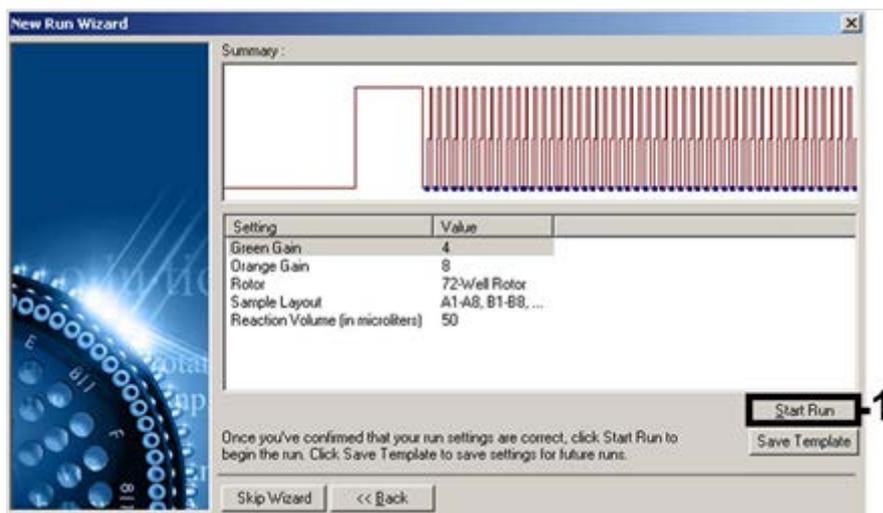


Figura 8. Iniciar a corrida. As capturas de ecrã para o *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit são mostradas a título de exemplo.

8. Depois de iniciar a corrida, importar a informação do ficheiro do ciclador, clicando no botão  ("Open") (Abrir) ou editar manualmente as amostras.
9. Para interpretação dos resultados, ver o manual do utilizador do instrumento e a respetiva folha de aplicação QIASymphony RGQ em www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.

Para obter informações de licenciamento atualizadas e renúncias de responsabilidade específicas do produto, consultar os manuais do kit QIAGEN ou do utilizador. Os manuais do kit QIAGEN e do utilizador estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser pedidos à Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Marcas comerciais: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

Janeiro 2014 HB-0371-S02-003 © 2013–2014 QIAGEN, todos os direitos reservados.



Sample & Assay Technologies

www.qiagen.com

Australia # 1-800-243-800

Austria # 0800-281011

Belgium # 0800-79612

Brazil # 0800-557779

Canada # 800-572-9613

China # 800-988-0325

Denmark # 80-885945

Finland # 0800-914416

France # 01-60-920-930

Germany # 02103-29-12000

Hong Kong # 800 933 965

India # 1-800-102-4114

Ireland # 1800 555 049

Italy # 800-787980

Japan # 03-6890-7300

Korea (South) # 080-000-7145

Luxembourg # 8002 2076

Mexico # 01-800-7742-436

The Netherlands # 0800 0229592

Norway # 800-18859

Singapore # 1800-742-4368

Spain # 91-630-7050

Sweden # 020-790282

Switzerland # 055-254-22-11

Taiwan # 0080-665-1947

UK # 0808-2343665

USA # 800-426-8157



Sample & Assay Technologies